

SINTESIS ENZIMATICA DE POLIPIRROL

E. Amaro¹, L. Arizmendi², M.E. Nicho¹, J. Romero-García², R. Cruz Silva^{1,*}

¹ Centro de Investigación en Ingeniería y Ciencias Aplicadas, UAEM Av. Universidad 1001
Col. Chamilpa, CP 62209 Cuernavaca, Mor.

² Centro de Investigación en Química Aplicada, Blvd. Enrique Reyna #140 Saltillo, Coah.

*Autor de correspondencia: rcruzsilva@uaem.mx

Abstract

En este trabajo, se obtuvo polipirrol usando el par enzima peroxidasa de rábano y 2,2'-azino-bis(ácido 3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico) (ABTS) como catalizador. Este método permite usar el peróxido de hidrógeno como agente oxidante y trabajar en condiciones ambientalmente benignas. El ABTS es sustrato de la enzima peroxidasa y es rápidamente oxidado en presencia de peróxido de hidrógeno en medio acuoso. Posteriormente, el ABTS reacciona con el monómero pirrol reduciéndose a la vez que se oxida el pirrol. Finalmente, el pirrol oxidado reacciona por acoplamiento obteniéndose el polipirrol. La caracterización del polímero obtenido se llevó a cabo mediante espectroscopía de Infrarrojo y de UV- luz visible, mientras que el rendimiento se cuantificó por gravimetría. Finalmente, se explora la aplicación de esta ruta de síntesis en la obtención de películas delgadas de polipirrol sobre sustratos de vidrio, las cuales fueron caracterizadas mediante microscopía óptica.

Introducción

La búsqueda de catalizadores enzimáticos para su uso en la industria se ha vuelto de gran interés por sus características de selectividad y compatibilidad con el medio ambiente. La catálisis enzimática de polímeros conductores se ha logrado en solo unos cuantos ejemplos como la polianilina, poli (2,5-diaminobencenosulfonato), polibencidina [1]. La primera ruta de lograr la polimerización del polipirrol vía catálisis enzimática se hizo usando una enzima Lacasa dando resultados similares a la síntesis química y electroquímica en cuanto a conductividad eléctrica además de ser una reacción que es benigna para el medio ambiente [2]. El mecanismo de oxidación del pirrol usando la lacasa comprende el uso de ABTS como mediador redox. La enzima peroxidasa de rábano es una de las oxidoreductasas mas ampliamente estudiadas y se encuentra disponible comercialmente en varios grados de pureza. Esta enzima ha sido ampliamente utilizada en la polimerización de la anilina, sin embargo su uso para obtener polipirrol no ha sido estudiado. En este trabajo, se presenta un estudio de la polimerización enzimática del pirrol usando peroxidasa de Rábano como agente oxidante y ABTS como mediador redox. El polímero obtenido fue caracterizado mediante el uso de espectroscopía de infrarrojo y espectroscopía de UV-luz visible, mientras que el rendimiento se determino por gravimetría.

Sección experimental

Materiales.- La enzima Peroxidasa de rábano (EC 1.11.1.7) (588 U/mg) fue adquirida de Biochimica. El Buffer Hydrion pH 4.0, el pirrol (99.5 % pureza), el ácido p-toluensulfónico monohidratado (TSA), el peróxido de hidrógeno al 30 %, 2,2'-azino-bis(ácido 3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico) (ABTS), el ácido etilendiaminotetraacético y el Hidróxido de Sodio fueron adquiridos de Aldrich.

Métodos.- Para la síntesis del polipirrol vía catálisis enzimática con HRP se prepararon 10 ml de disolución de la manera siguiente: a 1 mL de buffer pH 7 se le añadió la enzima y se disolvió, por separado se prepararon 9 mL de buffer pH 4 al cual se le añadió pirrol 0.2 M, manteniendo siempre en agitación se añadió 7.3 mg. de EDTA y por ultimo se añadió ABTS. Esta mezcla se vertió en un reactor de tres bocas con chaqueta de enfriamiento para atemperarlo, desgasificarlo y posteriormente purgarlo con nitrógeno, al terminar la purga se añadió la disolución con la enzima e

inmediatamente después se añadió 0.125 ml de H_2O_2 al 6% y se hicieron 8 adiciones más, una cada 3 minutos y se dejó reaccionar por espacio de una hora después de la última adición de H_2O_2 , una vez terminado este tiempo el producto se centrifugó por espacio de 20 minutos dando 2 lavados con metanol y centrifugando cada vez por espacio de 20 minutos, se secó en el horno a 60°C y se pesó y se guardó en envases de vidrio tapados y etiquetados para su posterior caracterización.

Caracterización.- El análisis de infrarrojo se realizó en un equipo Nicolet Magna 550, el análisis termogravimétrico se realizó en un equipo TA-Instruments Q-500. El análisis termogravimétrico se realizó en una balanza Sartorius con precisión de 0.01 mg.

Resultados y Discusión

De acuerdo con la literatura [3,4] la banda 1563 cm^{-1} es asociada con el estrechamiento del C-C de las especies neutrales de polipirrol, el pico a 1380 cm^{-1} y 1234 cm^{-1} son para el modo de estiramiento de los anillos de polipirrol y el pico 1281 cm^{-1} está asociado como el estrechamiento del C-C entre los anillos. Estos picos característicos de la estructura del polipirrol sintetizado por oxidación química se muestran en la Figura 1, lo cual indica que el polipirrol sintetizado vía enzimática presenta similaridad estructural con el sintetizado mediante oxidación química.

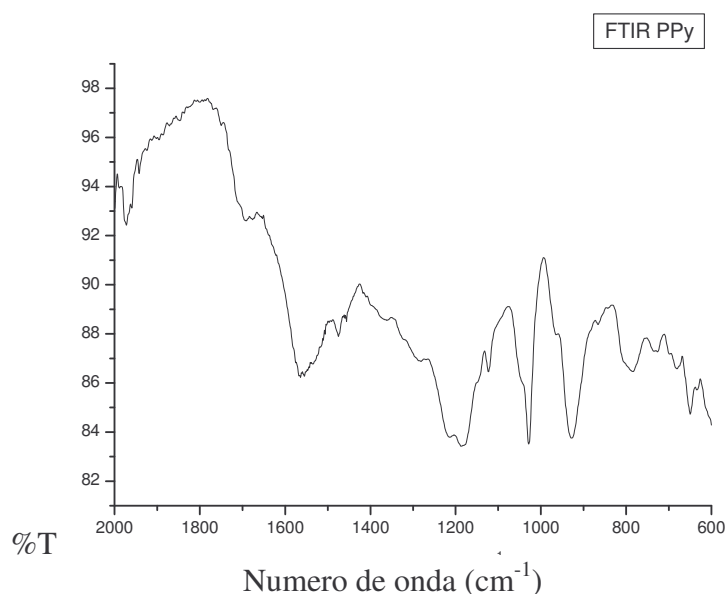


Figura 1.- Espectro de infrarrojo del polipirrol obtenido vía enzimática. Condiciones de reacción Pirrol 0.2 M, HRP $5\mu\text{m}$, Buffer pH 4.0 y $T=25^\circ\text{C}$, Relación molar H_2O_2 Pirrol 1:1,

El estudio del rendimiento de la reacción bajo distintas condiciones (Tabla 1) se llevó a cabo para determinar cuáles son las variables que tienen mayor influencia en el rendimiento. Esto debido a que el análisis espectroscópico determinó que los polímeros sintetizados a distintas temperaturas, concentraciones de enzima y de ABTS muestran características espectroscópicas similares. La temperatura (Reacciones 11-15) mostraron rendimientos muy parecidos excepto para la reacción llevada a cabo a 30° , donde se notó una ligera disminución. Por otra parte, la variación de HRP y ABTS

tuvieron un efecto más intenso en el rendimiento, e incluso la reacción 10 mostró un rendimiento superior al 100 %, lo cual indica que parte del buffer se incorporó al polímero. Esto fue confirmado por la presencia de picos de carbonilo en los espectros de FTIR, debido al ácido ftálico del buffer empleado. Es posible que una vez agotado el pirrol, el mecanismo de oxidación enzimática indirecto empiece a tener efecto sobre el buffer, el cual tiene un potencial de oxidación superior al del pirrol.

Tabla 1.- Rendimiento de la síntesis enzimática de polipirrol bajo distintas condiciones de reacción. Las condiciones básicas para todas las reacciones fueron: Pirrol 0.2 M, HRP 5µm, Buffer pH 4.0 y T=25 °C, Relación molar H₂O₂ Pirrol 1:1, excepto cuando se indique otro valor.

Variación	Valor	Rendimiento
Medio Ácido	1a) TSA	9.09%
	1b) Buffer pH 4	99.51%
ABTS	6) 2 mM (11.3 mg)	28.55%
	7) 5 mM (27.2 mg)	60.94%
	8) 7.5 mM (41.3 mg)	78.25%
Peroxidasa de rábano HRP	9) 2 µM (0.9 mg)	25.31%
	10) 10 µM (4.4 mg)	100.00%
Temperatura	11) 5° C	59.47%
	12) 15° C	55.77%
	13) 35° C	50.48%
	14) 20° C	54.7%
	15) 30° C	43.85%

Conclusiones

La oxidación enzimática del pirrol es un método viable para preparar polipirrol usando peróxido de hidrógeno como agente oxidante. La reacción es llevada a cabo en un medio de reacción benigno bajo condiciones menos oxidantes. El rendimiento de la reacción es función principalmente de la concentración de ABTS y de Peroxidasa, mientras que la temperatura tuvo poco efecto. El polímero sintetizado muestra características espectroscópicas similares al preparado mediante oxidación química.

Agradecimientos

Se agradece a Diana Iris Medellín su asistencia en la espectroscopia de infrarrojo, a Gabriela Padrón por la preparación de muestras y a Blanca Huerta su asistencia con el Análisis Termogravimétrico.

Referencias

1. S. Kobayashi; H. Uyama; S. Kimura *Chem. Rev.* 2001, *101*, 3793.
2. H.K. Song; G. T. R. Palmore *J. Phys. Chem. B* 2005, *109*, 19278.
3. G. Han; G.S., Jinying Yuan; F. Chen *J. Mater. Sci.* 2004, *39*, 4451.
4. M. Omastova; M. Trchova; J. Kovarova; J. Stejskal, *Synth Met* 2003, *138*, 447